昆虫学报 *Acta Entomologica Sinica*, April 2006, 49(2):206 - 212　　ISSN 0454-6296

# 颈双缘姬蜂毒液对寄主小菜蛾的免疫抑制作用

**郦卫弟,黄　芳,陈亚锋,陈学新***

(浙江大学应用昆虫学研究所,杭州　310029)

摘要:**对颈双缘姬蜂 *Diadromus collaris* (Gravenhorst)及其毒液引起寄主小菜蛾 *Plutella xylostella* 的一些生理效应进行了研究。结果表明,颈双缘姬蜂寄生寄主后可引起寄主小菜蛾蛹总血细胞及浆血细胞和颗粒血细胞数量的上升。寄生后 1 天观察,血细胞延展行为受到影响,表现在颗粒血细胞放射状丝的产生及浆血细胞伪足的形成受到抑制。通过毒液对寄主离体幼虫血细胞延展行为、形态及活性影响的研究,发现毒液抑制了寄主离体浆血细胞的延展,但对颗粒血细胞的影响不明显.毒液引起寄主浆血细胞和颗粒血细胞的破裂和死亡,毒液对寄主幼虫血淋巴酚氧化酶活性有一定的抑制作用,当反应至 40、60 及 80 min 时,毒液处理和未经毒液处理的寄主血淋巴在 490 nm 处的吸光值差异比较明显。对毒液蛋白成分的聚丙烯酰胺凝胶电泳分析发现,毒液中有 9 种多肽,分子量介于 9 ~ 50.2 kD,其中 50.2、30.5、28.2、25.1 和 12.6 kD 的多肽含量较高,与其他蜂毒液的一些作用已知的蛋白条带相似,因而推测它们同样具有免疫及发育抑制作用。结果证明颈双缘姬蜂毒液能破坏寄主细胞及体液因子调节的免疫反应。**

关键词:**颈双缘姬蜂;小菜蛾;毒液;免疫抑制;寄生因子;血细胞;酚氧化酶活性**

中图分类号:Q965　　文献标识码:A　　文章编号:0454-6296(2006)02-0206-07

# Immunosuppression effects of venom of pupal endoparasitoid wasp, *Diadromus collaris* (Gravenhorst) on its host, *Plutella xylostella* pupae

LI Wei-Di, HUANG Fang, CHEN Ya-Feng, CHEN Xue-Xin* (Institute of Applied Entomology, College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

**Abstract**: The venom of pupal endoparasitoid wasp, *Diadromus collaris* (Hymenoptera: Ichneumonidae) and its immunosuppression effects on the pupae of host *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) were preliminarily studied. The total number of hemocytes and the numbers of two types of hemocytes (plasmatocytes and granular cells) increased in the hemolymph of parasitized host pupae as compared with those in non-parasitized hosts. The morphology and behavior of plasmatocytes and granular cells in the hemolymph of parasitized host pupae were also changed. The adhesion and spreading behavior were inhibited in plasmatocytes and granular cells in one day after oviposition. The spreading behavior in plasmatocytes from the host larvae was also suppressed whereas that of granular cells was not significantly affected in the *in vitro* culture experiments. Isolated crude venom also caused the death and break of plasmatocytes and granular cells. The *in vitro* culture experiments also indicated that the venom of this pupal endoparasitoid inhibited the phenoloxidase activity of hemolymph of host larvae in a certain extent, especially when the reaction time is up to 40, 60 and 80 minutes. The venom SDS-PAGE showed that nine protein bands were present, ranging from 9 to 50.2 kD, including 50.2, 30.5, 28.2, 25.1 and 12.6 kD, which were similar to proteins acted as the inhibitors for host development and immunity in other parasitoid-host systems. The results above demonstrated that venom of *D. collaris* could impair cell and humor-mediated immune responses of the host.

**Key words**: *Diadromus collaris*; *Plutella xylostella*; venom; immunosuppression; parasitization-associated factors; hemocyte; phenoloxidase activity

---

**基金项目**:国家自然科学基金项目(30370959);教育部'新世纪优秀人才支持计划'(NCET-04-0521)

**作者简介**:郦卫弟,女,1975 年 6 月生,浙江人,博士研究生,助理研究员,研究方向为昆虫生理与生化,E-mail:wdli718@sina.com

* **通讯作者** Author for correspondence, E-mail:xxchen@zju.edu.cn

**收稿日期** Received:2005-05-23;**接受日期** Accepted:2005-08-22

毒液是寄生蜂影响寄主生理及调控寄主的最基本因子，与其他的一些寄生因子如雌蜂产卵时注入寄主体内的多 DNA 病毒（PDV）、幼蜂在发育过程中产生的畸形细胞或分泌蛋白等不同，它的存在并不局限于寄生蜂的某些特定类群，它存在于所有的寄生蜂类群中。Quicke（1997）对寄生蜂毒液的生理功能曾作过系统总结。近年来国际上对寄生蜂毒液的研究一直是寄生蜂与寄主昆虫相互关系研究的一个热点，陆续有重要的研究报道。研究发现，瘤姬蜂 *Pimpla hypochondriaca* 毒液能引起寄主番茄夜蛾 *Lacanobia oleracea* 血细胞形态及免疫活性的改变（Marris *et al*.，1999；Parkinson and Weaver，1999；Richards and Parkinson，2000；Parkinson *et al*.，2002）；丽蝇蛹集金小蜂 *Nasonia vitripennis* 毒液能影响寄主麻蝇 *Sarcophaga bullata* 血细胞的数量、形态和行为（Rivers *et al*.，2002）；菜粉蝶盘绒茧蜂 *Cotesia rubecula* 毒液中的丝氨酸蛋白酶类似物能与寄主体液中的丝氨酸蛋白酶类似物发生竞争而使寄主血淋巴酚氧化酶活化受到抑制，引起酚氧化酶活性的下降（Asgari *et al*.，2003；Zhang *et al*.，2004）；蝶蛹金小蜂 *Pteromalus puparum* 寄生及毒液能引起寄主菜粉蝶 *Pieris rapae* 免疫和血淋巴蛋白组分等的变化（Cai *et al*.，2001，2004；蔡峻等，2000，2001；张忠等，2004）；裹尸姬小蜂 *Euplectrus separatae* 毒液能影响寄主的内分泌系统，干扰寄主的发育（Marris *et al*.，2001；Nakamatsu and Tanaka，2003）；毒液中的透明质酸酶及磷脂酶能引起寄主脂肪体的分解（Nakamatsu and Tanaka，2004）。上述结果为进一步阐明寄生蜂毒液调控寄主的生理机制奠定了基础。

颈双缘姬蜂 *Diadromus collaris*（Gravenhorst）是小菜蛾蛹期的内寄生蜂，同时也是小菜蛾的主要寄生蜂之一（汪信庚和刘树生，1998），其雌蜂体内只含有毒液这一因子（另文发表），因此毒液在颈双缘姬蜂对寄主小菜蛾的调节过程中发挥着重要的作用。小菜蛾 *Plutella xylostella* 是一种世界性害虫，抗药性问题严重，所以亟需发展有效的生物防治手段。本实验室对菜蛾盘绒茧蜂 *Cotesia plutellae* 对寄主小菜蛾的生理效应有过一定的研究（白素芬等，2003）。目前国内外还没有任何研究涉及颈双缘姬蜂寄生后对寄主小菜蛾的生理影响，本研究是这方面的首次探索，可为有效进行小菜蛾的生物防治积累资料。

## 1　材料与方法

### 1.1　寄生蜂及寄主昆虫的饲养

颈双缘姬蜂及寄主小菜蛾均采自杭州郊区菜田，在室内续代繁殖，并且每年春季补充一定量的雌蜂以保证种群的活力。

蜂的室内饲养条件参考汪信庚等（1997）及汪信庚和刘树生（1998）的方法。群体繁蜂时将羽化 3 天左右及交配过的雌蜂以 1∶5 的比例放入自制的蜂盒中寄生一天内的带茧的小菜蛾新鲜蛹，寄生 24 h 后将蜂引出，被寄生小菜蛾蛹置于光照 16 h、温度 25℃、相对湿度 75% 条件下饲养。单独寄生时将羽化一天内的新鲜蛹单个放入 1.2 cm × 8 cm 的小管内，然后引入 1 头羽化 3 天左右及交配过的雌蜂，在 40 W 日光灯下观察其寄生情况。当寄生完毕，然后将这些被寄生蛹也置于光照 16 h、温度 25℃、相对湿度 75% 条件下饲养。

寄主小菜蛾饲养参考汪信庚和刘树生（1998）方法，在 25℃，相对湿度 75% 及光照 14 h 的全自动人工气候室内，用 30 cm × 30 cm × 30 cm 的养虫笼，将套上塑料袋的菜叶插入盛水的瓶子中，以吸引小菜蛾产卵，收集卵袋，放于甘蓝（京丰一号）植株上，用于小菜蛾的生长。

### 1.2　血细胞总数和各类血细胞的计数

寄生后 0.5、1、2、3、4、5 天进行取血镜检，将小菜蛾蛹在 75% 的酒精中消毒，吸干水分，于室温下 3 000 × g 离心 5 min，剪开头部，用毛细管吸取血淋巴，并以 10 倍体积的抗凝液（98 mmol/L NaOH，145 mmol/L NaCl，17 mmol/L EDTA，41 mmol/L 柠檬酸）稀释，在 Leica DM IRB 相差显微镜下，用血球计数板统计血细胞总数及浆血细胞和颗粒血细胞数量。每次检查 10 头寄生小菜蛾蛹及同期未寄生小菜蛾蛹。

### 1.3　血细胞延展行为的观察

取化蛹后 1 天和寄生后 1 天的小菜蛾蛹，剪开翅芽处的体壁，用毛细管吸取血淋巴，滴加于载玻片上，放在 Leica DM IRB 倒置显微镜下观察，并用 Leica DFC300FX 照相系统拍照。

### 1.4　离体血细胞的延展行为及活性分析

将 4 龄未寄生的小菜蛾幼虫在 75% 酒精中消毒 30 s，在吸水纸上吸干，用干净的剪刀剪开腹足表面，用毛细管吸取 1 μL（3 头幼虫左右）血淋巴加入放有 50 μL 的 TC-100 培养液的 96 孔板中，分别加入 1 个毒囊当量（venom reservoir equivalent，VRE）的毒

液(含量为 0.02 VRE/μL)、2 个毒囊当量的毒液(0.04 VRE/μL)及不加毒液的处理;盖上盖子,用 Parafilm 膜封好口,于 27℃下孵育,分别于加入毒液后的 0、0.25、0.5、1、2 和 3 h 在 Leica DM IRB 倒置显微镜下观察血细胞的延展行为。

同时为了评价毒液对血细胞活性的影响,将孵育 3 h 后的血细胞加入 2 个毒囊当量的毒液及不加毒液处理,同样于 0、0.25、0.5、1、2 和 3 h 观察血细胞形态的变化,分析对血细胞活性的影响。上述实验各重复 3 次。

### 1.5 酚氧化酶活性的测定

取 75%酒精消毒过的 50 头老熟幼虫的血淋巴,加入到 100 μL 冰 PBS,800 × g 离心 5 min,取上清液,在无细胞血清中加入 900 μL L-多巴(20 mmol/L)(Sigma)溶液,混匀,用酶标仪(Quant, BIO-TEK)在 490 nm 下 5、10、20、30、40、50、60、70、80、100 min 观察,测定其吸光值。对于酚氧化酶活力的抑制反应,加入 25 头毒囊量的毒液于同样的溶液中混匀,测定其 OD 值。重复 3 次。

### 1.6 毒液蛋白的 SDS-PAGE

解剖 80 头出蜂后 3 天的雌蜂毒囊,放入冰的 PBS 中,用尖嘴镊撕破毒囊,吸取其中的毒液,12 000 × g 离心 10 min,取上清液,抽滤干燥 3 h,加入 10 μL pH 7.4 的 PBS 进行电泳,然后用 Bio-Rad 公司的 Quantity One 软件进行蛋白条带的分析。

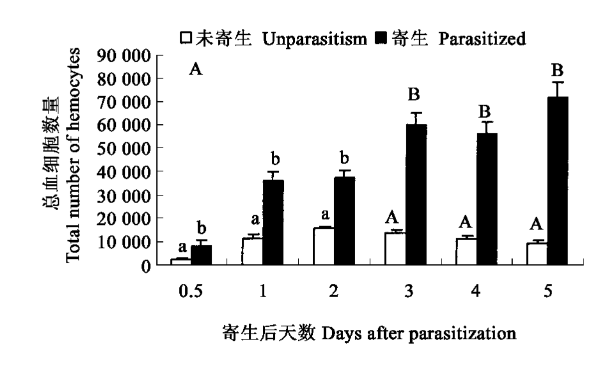
毒液样品在 5 × 样品缓冲液(0.6 mL 1 mol/L Tris-HCl (pH 6.8),5 mL 50%甘油,2 mL 10% SDS,0.5 mL β-巯基乙醇,1 mL 1% 溴酚蓝,0.9 mL $ddH_2O$)中稀释,并经煮沸 10 min 处理。

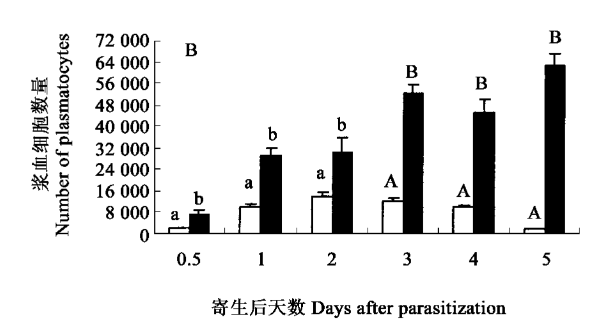
电泳采用 12.5%分离胶浓度,5%浓缩胶浓度,在 200 V 的恒压条件下进行。凝胶用考马斯亮蓝 R250 (考马斯亮蓝 R250 1.0 g,无水乙醇 450 mL,冰醋酸 100 mL,$H_2O$ 600 mL)染色过夜。将胶转移到脱色液(无水乙醇 300 mL,冰醋酸 100 mL,水 600 mL)中脱色,直到背景清晰为止。

## 2 结果

### 2.1 寄生对小菜蛾蛹血细胞数量的影响

对寄生和同期未寄生(0.5 ~ 5 天)寄主小菜蛾的蛹血细胞数量的统计发现,寄生能引起寄主总血细胞及两种主要类型血细胞(浆血细胞和颗粒血细胞)数量的大量上升(图 1),寄生和未寄生的寄主总血细胞数约相差 3 ~ 6 倍之多。



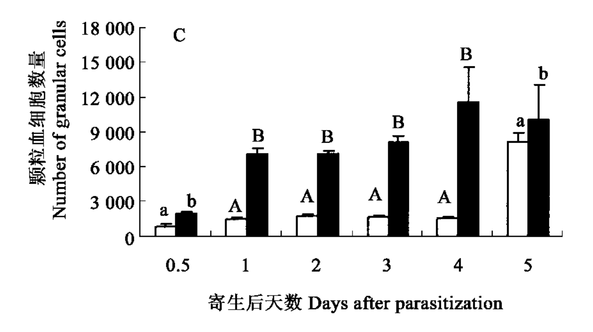




**图 1 小菜蛾蛹被寄生后血细胞数量(/μL)的变化**

Fig. 1 Change of hemocyte numbers in parasitized or non-parasitized *Plutella xylostella* pupae

数据经过 Student 's *t* 检验,图中字母大写表示差异达极显著($P \leqslant 0.01$),小写表示差异达显著水平($P \leqslant 0.05$)。Data are tested by Student 's test. Capital letters indicate the difference at the level of 1%; small letters indicate the difference at the level of 5%; A:总血细胞 Total hemocytes; B:浆血细胞 Plasmatocyte; C:颗粒血细胞 Granular cell.

### 2.2 寄生对小菜蛾蛹血细胞延展行为的影响

经过对寄生后 1 天的小菜蛾蛹血细胞延展行为的观察,发现寄生引起颗粒血细胞和浆血细胞延展行为的变化,使浆血细胞失去伪足,颗粒血细胞失去形成放射状丝状物的能力(图 2:B);而未寄生的小菜蛾蛹刚离体时浆血细胞延展成梭形,颗粒血细胞形成放射状丝(图 2:A)。

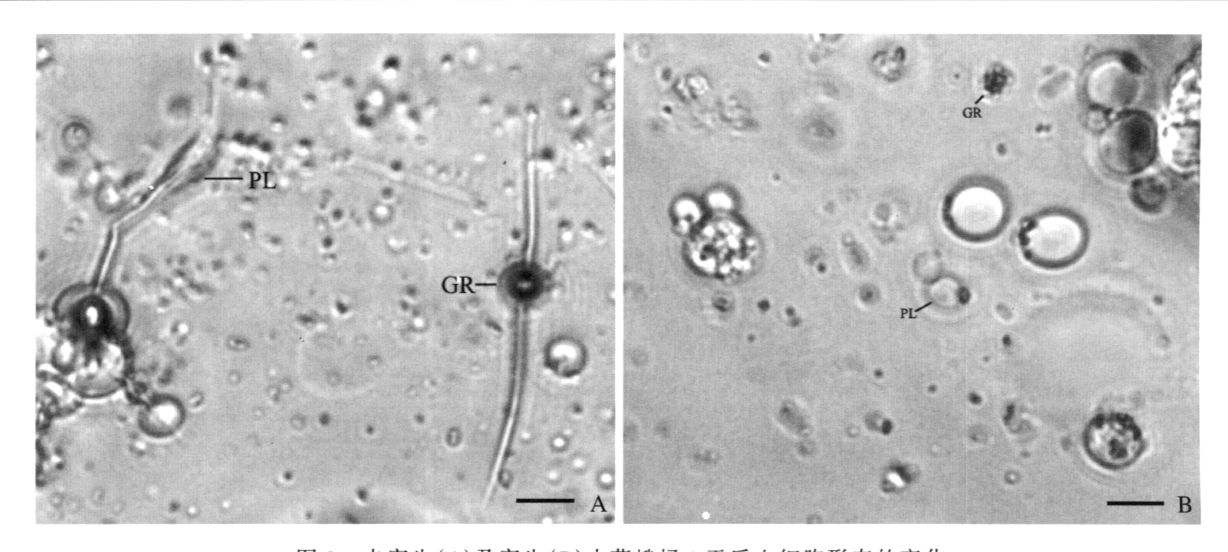



图 2 未寄生(A)及寄生(B)小菜蛾蛹 1 天后血细胞形态的变化

Fig. 2 Hemocytes of host pupae 1 day after unparasitism (A) and parasitism (B)

PL：浆血细胞 Plasmatocytes；GR：颗粒血细胞 Granular cell. 标尺 Bars = 100 μm.

**2.3 毒液对离体小菜蛾幼虫血细胞延展行为、形态及活性的影响**

实验结果表明，血细胞延展行为在 0.02 VRE/μL 毒液量处理与不加毒液的处理间没有明显差异，在 0.5 h 时观察，浆血细胞有较少的延展(图 3：A，B)，至 1 h 时浆血细胞已大部分完成延展(图 3：D，E)。当加入 0.04 VRE/μL 的毒液时，从 0.5 h 开始，浆血细胞的延展被明显抑制，形成圆形细胞(图 3：C，F，I)；颗粒血细胞的活性受到影响，至 1 h 时颗粒血细胞形状改变，开始破裂(图 3：F，I)。

当血细胞孵育 3 h 后再加入毒液时，浆血细胞的活性受到影响，同时随着时间的推移，这种影响作用逐渐增强。在 0.5 h 观察时，大部分浆血细胞破裂，仅有少部分正常延展的浆血细胞(图 4：B)；而至 1 h 时，则已没有正常延展的血细胞(图 4：D)，同样在 3 h 时也如此(图 4：F)。颗粒血细胞的活性也受到影响，1 h 后可以看到颗粒血细胞破裂的现象(图 4：D，F)。而在未加毒液的处理中，至 3 h 观察，浆血细胞保持正常的延展，颗粒血细胞的形态也没发生变化(图 4：A，C，E)。

**2.4 毒液对小菜蛾幼虫血淋巴酚氧化酶活性的影响**

小菜蛾幼虫血淋巴在没有毒液的情况下能使多巴胺在反应 15 ~ 20 min 时开始变黑，并且颜色渐渐加深，25 min 开始变黑的速度加快，至 80 min 时不再发生变化。在有寄生蜂毒液的情况下，使多巴胺变黑的时间有所延迟，至 40 min 时开始出现变黑；然后同不加毒液的处理一样，变黑的速度渐渐加快，反应至 100 min 时，与前者的变黑程度一致，都达 2.96 左右。从数据上看，两者之间虽有一定的差异，但差异不显著(图 5)。

**2.5 毒液蛋白成分的分析**

SDS-PAGE 及 Quantity One 软件分析表明，颈双缘姬蜂毒液中有 9 种多肽，分子量分别为 9、12.6、18、25.1、28.2、30.5、35、43.0 和 50.2 kD，其中 50.2、30.5、28.2、25.1 和 12.6 kD 的多肽含量较高 (图 6)。

# 3 讨论

颈双缘姬蜂寄生引起寄主小菜蛾血细胞数量的上升，说明寄生引起了寄主的免疫防御反应(Strand and Noda, 1991)。寄生 1 天后寄主小菜蛾蛹的血细胞延展行为发生了变化，浆血细胞失去了伪足，颗粒血细胞也失去了放射状丝。由于寄生后 1 天颈双缘姬蜂幼虫还未孵化，并且在颈双缘姬蜂中又不存在 PDV 这一因子，因此可以认为是颈双缘姬蜂毒液引起了寄主小菜蛾血细胞延展行为变化这一生理效应。

颈双缘姬蜂毒液引起寄主小菜蛾幼虫血细胞的延展的抑制及细胞的破碎，这与其他一些研究结果相类似。Richards 和 Parkinson (2000)发现蛹寄生蜂瘤姬蜂毒液在较低的浓度下抑制了寄主番茄夜蛾幼虫离体浆血细胞的延展，在较高浓度下引起浆血细胞的溶解。Rivers 等(2002) 发现外寄生性的丽蝇蛹集金小蜂毒液抑制了寄主麻蝇离体幼虫颗粒血细胞和浆血细胞的延展能力，并引起了浆血细胞的死亡；同时认为这种细胞免疫的抑制与寄主的凝血及伤口愈合的抑制有关，这有利于外寄生性寄生蜂幼蜂的取食及寄主的取食。Cai 等(2004)通过对失去延展

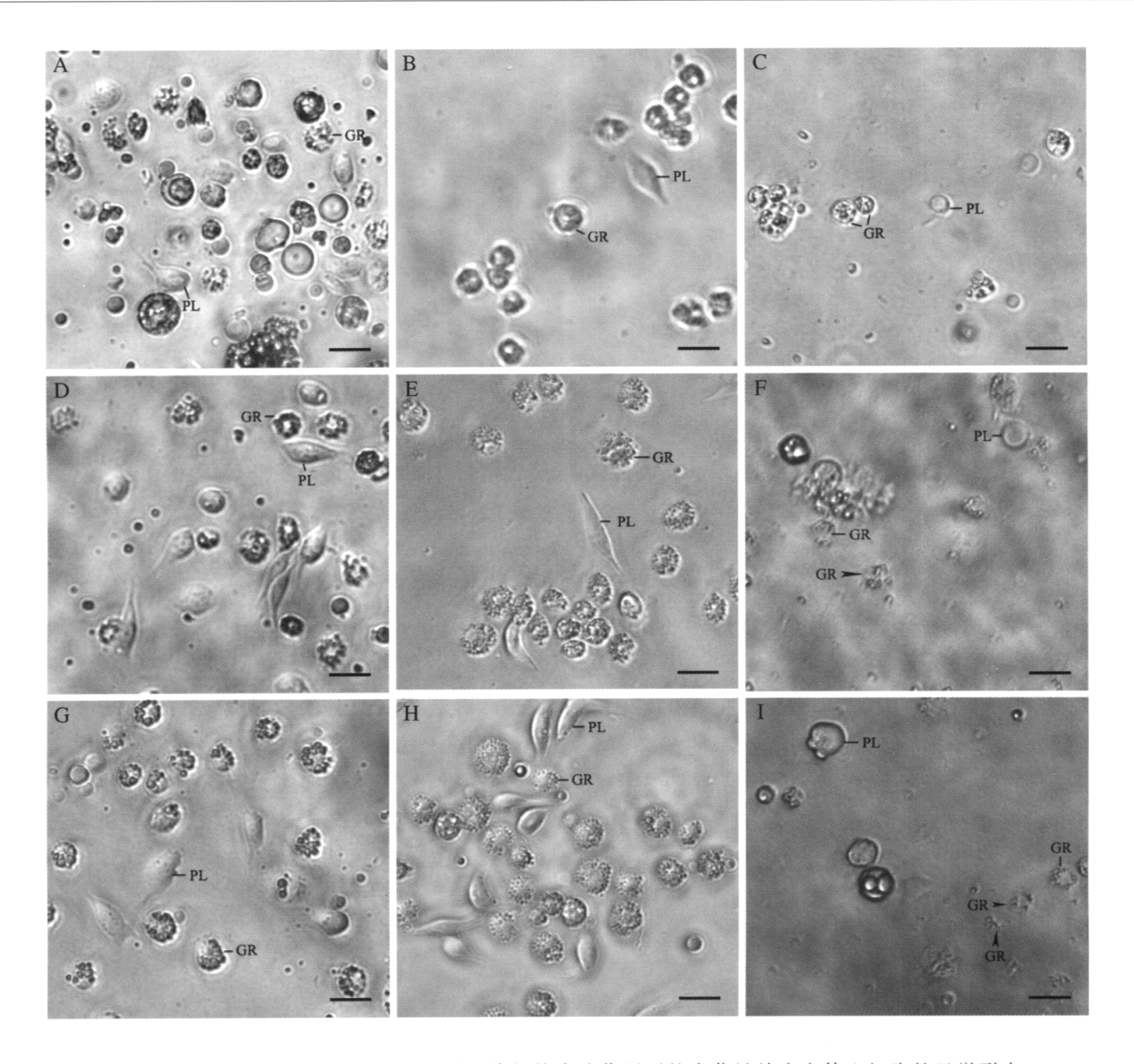



图 3 0.04 VRE/μL 及 0.02 VRE/μL 颈双缘姬蜂毒液作用下的小菜蛾幼虫离体血细胞的显微形态

Fig. 3 Phase contrast micrographs of hemocytes from larvae of *Plutella xylostella* cultured *in vitro* with isolated crude venom (0.04 VRE/μL and 0.02 VRE/μL) from *Diadromus collaris*

血细胞和毒液同时加入到 TC-100 培养液中。在加入 0.04 VRE/μL 毒液的处理中(C, F, I),在处理后 0.5 h、1 h 和 3 h 观察时,浆血细胞没有粘附性,失去伪足,颗粒血细胞也有细胞溶解的症状(F, I 的箭头所示);而加 0.02 VRE/μL 毒液(B, E, H)和不加毒液(A, D, G)处理的颗粒血细胞和浆血细胞都表现出良好的活性。Bars = 100 μm.

Hemocytes and venom were added to TC-100 medium simultaneously. In the treatment of 0.04 VRE/μL venom, plasmatocytes were not adhesive and did not spread. Granular cell shows lysis (arrows in F and I), whereas these cells remained viable when incubated in 0.02 VRE/μL (B, E, H) and without venom (A, D, G). Bars = 100 μm.

性的菜粉蝶蛹浆血细胞的荧光染色发现,浆血细胞行为的改变是由于细胞内的肌动蛋白失活而引起的。目前对于颈双缘姬蜂毒液引起寄主血细胞的形态变化的机理还不清楚,需要进一步研究。

Parkinson 等(2002)在瘤姬蜂的毒液中发现分子量分别为 28 kD 和 30 kD 的两条蛋白对抑制血细胞的凝集反应有最强的作用,同时通过 N-端氨基酸序列分析,得出它们与编码丝氨酸蛋白酶Ⅰ的基因序列相同,对这两者基因序列推测分析,它们将编码一种 25.3 kD 的蛋白质。本研究中我们也发现了 25 kD 和 28 kD 左右的 2 条蛋白条带,或许也有相似的功能,但还需要进一步的实验来证实。

颈双缘姬蜂毒液能抑制寄主小菜蛾幼虫血淋巴酚氧化酶的活性。毒液对寄主血淋巴的酚氧化酶活性的抑制已有人报道(Parkinson and Weaver, 1999; Asgari *et al*., 2003),但是对这种抑制机制的研究还是比较少的。Asgari 等(2003) 经过研究证实毒液中分子量为 50 kD 的多肽是一种类丝氨酸蛋白酶抑制

图 4 小菜蛾幼虫离体粘附性的血细胞在 0.04 VRE/μL 颈双缘姬蜂毒液作用下的显微形态

Fig. 4 Phase contrast micrographs of adhesive hemocytes from larvae of *Plutella xylostella* cultured *in vitro* with isolated crude venom (0.04 VRE/μL) from *Diadromus collaris*

离体血细胞先在 27℃下的 TC-100 培养液中孵育 3 h,再加入毒液。在加入毒液的处理中(B, D, F),在处理后 0.5 h、1 h 和 3 h 观察寸,浆血细胞呈现出细胞溶解,破裂的症状,颗粒血细胞也有细胞溶解的症状但不如浆血细胞明显(D, F 的箭头所示);而不加毒液处理 A, C, E)的颗粒血细胞和浆血细胞都表现出良好的活性。Hemocytes were incubated *in vitro* for 3 h at 27℃ in TC-100 medium prior to addition f wasp venom. In the presence of venom (B, D, F), spread plasmatocytes became lysis and granular cell shows the same symptom but is light (arrows n D and F), whereas these cells remained viable when incubated without venom (A, C, E). Bars = 100 μm.

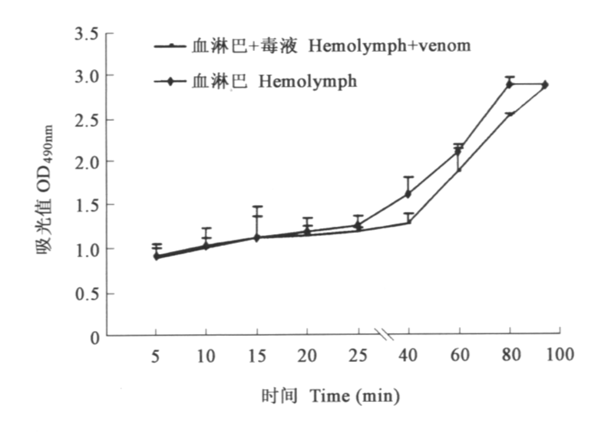



图 5 毒液处理及未处理情况下小菜蛾幼虫血淋巴的黑化情况

Fig. 5 Effect of venom on the melanization of larval hemolymph of *Plutella xylostella*

剂(SPH),它能抑制寄主血淋巴黑化的抑制,这种作用与毒液总成分的作用效果相近。由于丝氨酸蛋白酶级联反应是酚氧化酶原激活的前提,同时一种昆虫中自身携带的丝氨酸蛋白酶类似物在这一级联反

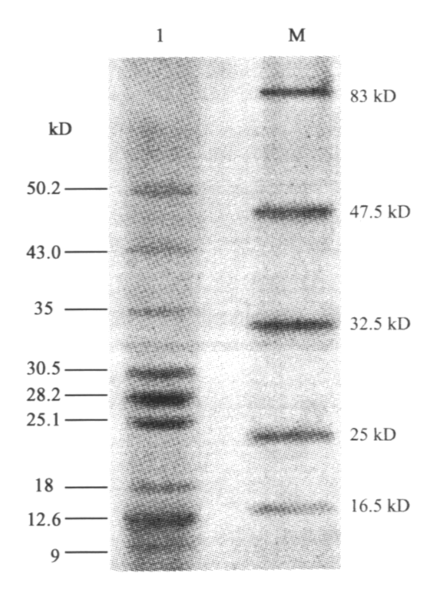



图 6 颈双缘姬蜂毒液蛋白的 SDS-PAGE

Fig. 6 SDS-PAGE of venom of the parasitoid *Diadromus collaris*

1. 毒液蛋白 Venom; M. 标准分子量 Marker.

应中起着必不可少的作用(Yu *et al*., 2003),因此毒液中的 SPH 抑制酚氧化酶活性的机制值得研究。随后 Zhang 等(2004)实验证明,毒液中的 SPH 与寄主体内的 SPH 竞争性地与酚氧化酶原激活酶结合,由于蜂毒液中的 SPH 不具有水解活性位点,导致酚氧化酶原激活酶不能正常激活酚氧化酶原。在颈双缘姬蜂毒液中我们也发现了一种分子量为 50.2 kD 的多肽,同时本研究结果也表明颈双缘姬蜂毒液对寄主小菜蛾幼虫血淋巴的酚氧化酶活性有一定的抑制作用,因此,推测颈双缘姬蜂毒液中 50.2 kD 多肽可能具有相似的功能,但也需要通过对毒液蛋白的分离纯化才能明确具体起作用的成分。

## 参考文献(References)


Asgari S, Zhang G, Zareie R, Schmidt O, 2003. A serine proteinase homolog venom protein from an endoparasitoid wasp inhibits melanization of the host hemolymph. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 33: 1 017 – 1 024.

Bai SF, Chen XX, Cheng JA, Fu WJ, He JH, 2003. Characterization of *Cotesia plutellae* polydnavirus and its physiological effects on the diamondback moth, *Plutella xylostella* larvae. *Acta Entomol. Sin.*, 46(4): 401 – 408. [白素芬,陈学新,程家安,符文俊,何俊华, 2003. 菜蛾盘绒茧蜂多分 DNA 病毒的特性及其对小菜蛾幼虫的生理效应. 昆虫学报, 46(4): 401 – 408]

Cai J, Lu HP, Ye GY, Hu C, 2001. Effects of pseudoparasitism on total hemocyte cunt and cellular encapsulation of *Pieris rapae* pupae. *Journal of Zhejiang University* (*Agric. & Life Sci.*), 27(1): 15 – 18. [蔡峻,吕慧平,叶恭银,胡萃, 2001. 假寄生对菜粉蝶蛹血细胞总数和包囊能力的影响. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 27(1): 15 – 18]

Cai J, Ye GY, Hu C, 2000. Effect of parasitism on hemocyte population and soluble protein components in the hemolymph of *Pieris rapae* pupae. *Acta Phytophylacica Sinica*, 27(2): 151 – 156. [蔡峻,叶恭银,胡萃, 2000. 寄生对菜粉蝶蛹血淋巴中血细胞和可溶性蛋白组分的影响. 植物保护学报, 27(2): 151 – 156]

Cai J, Ye GY, Hu C, 2001. Effect of parasitization by the pupal endoparasitoid, *Pteromalus puparum* (Hymenoptera: Pteromalidae) on humoral immune reactions of *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae). *Entomologia Sinica*, 8: 335 – 342.

Cai J, Ye GY, Hu C, 2004. Parasitism of *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae) by a pupal endoparasitoid, *Pteromalus puparum* (Hymenoptera: Pteromalidae): Effects of parasitization and venom on host hemocytes. *Journal of Insect Physiology*, 50: 315 – 322.

Coudron TA, Brandt SL, 1996. Characteristics of a developmental arrestant in the venom of the ectoparasitoid wasp *Euplectrus comstockii*. *Toxicon*, 34: 1 431 – 1 441.

Coudron TA, Wright MK, Puttler B, Brandt SL, Rice WC, 2000. Effect of ectoparasite *Necremnus breviramulus* (Hymenoptera: Eulophidae) and its venom on natural and factitious hosts. *Annals Entomological Society of America*, 93: 890 – 897.

Marris GC, Bell HA, Naylor JM, Edwards JP, 1999. The role of *Pimpla hypochondriaca* venom in the suppression of pupal noctuid host immunity. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 93: 291 – 298.

Marris GC, Weaver RJ, Bell J, Edwards JP, 2001. Venom from the ectoparasitoid wasp *Eulopus pennicornis* disrupts host ecdysteroid production by regulating host prothoracic gland activity. *Physiological Entomology*, 26: 229 – 238.

Nakamatsu Y, Tanaka T, 2003. Venom of ectoparasitoid, *Euplectrus* sp. near *plathypenae* (Hymenoptera: Eulophidae) regulates the physiological state of *Pseudaletia separata* (Lepidoptera: Noctuidae) host as a food resource. *Journal of Insect Physiology*, 49: 149 – 159.

Nakamatsu Y, Tanaka T, 2004. Venom of *Euplectrus separatae* causes hyperlipidemia by lysis of host fat body cells. *Journal of Insect Physiology*, 50: 267 – 275.

Parkinson N, Richards EH, Conyers C, Smith I, Edwards JP, 2002. Analysis of venom constituents from the parasitoid wasp *Pimpla hypochondriaca* and cloning of a cDNA encoding a venom protein. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 32: 729 – 735.

Parkinson N, Weaver RJ, 1999. Noxious components of venom from the pupa-specific parasitoid *Pimpla hypochondriaca*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 73: 74 – 83.

Quicke DLJ, 1997. Parasitic Wasps. London: Chapman & Hall. 1 – 470.

Richards EH, Parkinson NM, 2000. Venom from the endoparasitic wasp *Pimpla hypochondriaca* adversely affects the morphology, viability, and immune function of hemocytes from larvae of the tomato moth, *Lacanobia oleracea*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 76: 33 – 42.

Rivers DB, Ruggiero L, Hayes M, 2002. The ectoparasitic wasp *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae) differentially affects cells mediating the immune response of its flesh fly host, *Sarcophaga bullata* Parker (Diptera: Sarcophagidae). *Journal of Insect Physiology*, 48: 1 053 – 1 064.

Strand MR, Noda T, 1991. Alterations in the haemocytes of *Pseudoplusia includens* after parasitism by *Microplitis demolitor*. *Journal of Insect Physiology*, 37: 839 – 850.

Wang XG, Liu SS, 1998. Bionomics of *Diadromus collaris* (Hymenoptera: Ichneumonidae), a major pupal parasitoid of *Plutella xylostella*. *Acta Entomol. Sin.*, 41(4): 389 – 395. [汪信庚,刘树生, 1998. 小菜蛾蛹主要天敌颈双缘姬蜂的生物学. 昆虫学报, 41(4): 389 – 395]

Wang XG, Liu SS, Cheng XB, 1997. Host age preference and suitability of *Diadromus collaris*, a major pupal parasitoid of *Plutella xylostella*. *Chinese Journal of Biological Control*, 13(3): 101 – 105. [汪信庚,刘树生,程晓波, 1997. 小菜蛾主要天敌颈双缘姬蜂对寄主蛹龄的选择性和适合性. 中国生物防治, 13(3): 101 – 105]

Yu XQ, Jiang H, Wang Y, Kanost MR, 2003. Nonproteolytic serine proteinase homologs are involved in prophenoloxidase activation in the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. *Insect Biochemistry* and *Molecular Biology*, 33: 197 – 208.

Zhang GM, Lu Z, Jiang H, Asgari S, 2004. Negative regulation of prophenoloxidase (proPO) activation by a clip-domain serine proteinase homolog (SPH) from endoparasitoid venom. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 34: 477 – 483.

Zhang Z, Ye GY, Hu C, 2004. Effects of venom from two pteromalid wasps *Pteromalus puparum* and *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae) on the spreading, viability and encapsulation capacity of *Pieris rapae* hemocytes. *Acta Entomol. Sin.*, 47(5): 551 – 561. [张忠,叶恭银,胡萃, 2004. 两种金小蜂毒液对菜粉蝶蛹血细胞延展、存活及包囊作用的影响. 昆虫学报, 47(5): 551 – 561]


(责任编辑:黄玲巧)